

不确定度, $\bar{x}$ 表示纯度标准值最佳值, $u_c(x_1)$ 表示 HPLC 法合成不确定度, x_1 表示 HPLC 法纯度标准值, $u_c(x_2)$ 表示 DSC 法合成不确定度, x_2 表示 DSC 法纯度标准值。计算结果为 8.766×10^{-4} 。

4.7 总合成不确定度计算

总合成不确定度计算数学模型为 $u_{c(\text{总})} = \sqrt{u_{c(x)}^2 + S_H^2 + S_I^2}$ 。式中 $u_{c(\text{总})}$ 表示总合成不确定度, $u_{c(x)}$ 表示测量产生的合成不确定度, S_H 表示均匀性产生的不确定度, S_I 表示稳定性产生的不确定度。总合成不确定度计算结果为 9.074×10^{-4} 。

4.8 扩展不确定度计算

数学模型为 $U_{(x)} = k \times u_{c(\text{总})}$, 式中 $U_{(x)}$ 表示扩展不确定度, k 表示包含因子, $u_{c(\text{总})}$ 表示总合成不确定度。 k 取 2, $P=0.95$, 扩展不确定度为 0.18%。

4.9 大黄素纯度标准物质标准值及不确定度

大黄素纯度标准物质的标准值为 $(99.54 \pm 0.18)\%$, $k=2$, $P=0.95$ 。

5 讨论

本实验研制大黄素纯度标准物质采用 2 种不同原理的分析方法联合定值, 即 HPLC 面积归一化法和基于凝固点下降原理的 DSC 法, 有效克服了采用一种技术带来的分析方法缺陷, 使定值结果准确可靠。

研制的大黄素纯度标准物质提供了纯度标准值和不确定度评估数据, 研究按照计量标准物质研究方法, 标准物质具备量值溯源和传递功能, 可用于仪器校准、新方法确认、药品质量控制等。

本实验研制的计量纯度标准物质在国内外尚属首次, 已经获得国家质检总局批准为国家一级有证计量标准物质, 证书编号为 GBW09513。

大黄素为常见中药材及中成药中的有效成分, 大黄素纯度标准物质的研制将为中药的现代化和标准化发挥积极的推动作用。

REFERENCES

- [1] ZHANG S S. Survey research on the pharmacological effects of emodin [J]. China Med Her(中国医药导报), 2006, 2(23): 12-13.
- [2] Ch.P 2010(中国药典 2010 年版.一部) [S]. 2010.
- [3] Metrology Law of the People's Republic of China(中华人民共和国计量法) [S]. 1985.
- [4] Technical Specification of Development of Primary Certificated Reference Materials of the People's Republic of China(中华人民共和国一级标准物质研制技术规范) [S]. 1994: JJF 1006-1994.
- [5] International Organization for Standardization, Reference Materials-General and Statistical Principles for Certification [S]. ISO Guide 35, 2006.
- [6] Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement(测量不确定度评定与表示) [S]. 1999: JJF 1059-1999.
- [7] QUAN H, HAN Y Z, LAI X P, et al. Reference Material and its Application Technology(标准物质及其应用技术) [M]. Beijing: Standards Press of China, 2003.
- [8] GONG N B, GUO Y H S, LU Y, et al. Preparation and characterization a new certified reference material of puerarin (GBW09511) [J]. Anal Methods, 2012, 4(10): 3443-3347.
- [9] GONG N B, LIU S, LU Y, et al. Purity assessment of luteolin reference material candidates by coulometric titration method [J]. Anal Methods, 2013(5): 784-788.
- [10] ZHANG Y. Extraction and separation of emodin from PCS and the analysis of structure [J]. J Qiqihar Med Coll(齐齐哈尔医学院学报), 2010, 31(7): 1091-1093.
- [11] CHEN D J, WANG L, ZU X D, et al. Studies on the extraction of emodin and the analysis of structure by NMR [J]. J Nanjing TCM Univ(南京中医药大学学报), 2010, 26(2): 126-129.

收稿日期: 2012-11-13

布洛芬联合芎麻汤对利血平化低 5-HT 伴局部脑血管痉挛的偏头痛模型的影响

徐成坤¹, 郭建生^{2*} (1. 南华大学附属第一医院, 湖南 衡阳 421001; 2. 湖南中医药大学, 长沙 410208)

摘要: 目的 研究布洛芬联合芎麻汤对利血平化低 5-HT 伴局部脑血管痉挛的实验性偏头痛模型小鼠的作用。方法 采用皮下注射利血平 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 14 d 建立偏头痛模型, 第 14 天小鼠乙醚麻醉, 经颅穿刺大脑皮层注射自身鼠血凝块 $2 \mu\text{L} \cdot \text{只}^{-1}$, 观察布洛芬联合芎麻汤对利血平偏头痛小鼠体质量、凝血时间及血清中 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 含量的影响。结果

基金项目: 湖南省高校创新平台开发基金项目(11K048); 湖南省研究生科研创新项目(CX2010B351)

作者简介: 徐成坤, 男, 副主任药师 Tel: (0734)8578926 E-mail: cks1881@163.com *通信作者: 郭建生, 男, 硕士, 教授, 博导, 硕导 Tel: (0731)88458239 E-mail: gjs7878@126.com

布洛芬联合芎麻汤能增加偏头痛小鼠的体质量,延长凝血时间,调节 5-HT 的过度降低,提高血清中 5-HIAA 的含量,与模型组比较,差异具有统计学意义($P<0.01$)。结论 布洛芬联合芎麻汤对于利血平所致小鼠偏头痛具良好疗效。

关键词:布洛芬;芎麻汤;偏头痛

中图分类号:R969.4

文献标志码:A

文章编号:1007-7693(2013)09-0940-04

Role of Ibuprofen Joint Xiongma Decoction in Migraine Model of Low 5-HT with Local Cerebral Vasospasm by Reserpine

XU Chengkun¹, GUO Jiansheng^{2*} (1.University of South China, Hengyang 421001, China; 2.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the role of ibuprofen joint Xiongma decoction in the migraine model mice of low 5-HT with local cerebral vasospasm induced by reserpine. **METHODS** By giving hypodermic injection of 10 mg·kg⁻¹ reserpine for 14 days, copied migraine model was established. On the 14th day after ether anesthesia in mice, puncture cerebral cortex to inject blood clots(2 μ L per mice) was conducted, to observe the effect of ibuprofen joint Xiongma decoction on weight, coagulation time, 5-HT and 5-HIAA level in plasma. **RESULTS** Ibuprofen joint Xiongma decoction could increase body weight, prolong coagulation time, prevent excessive decrease in 5-HT and improve the content of 5-HIAA. Compared with the model group, the difference was significant($P<0.01$). **CONCLUSION** Ibuprofen joint Xiongma decoction is effective on migraine mice induced by reserpine.

KEY WORDS: ibuprofen; Xiongma decoction; migraine

偏头痛是一种临床常见、危害性很大,且反复发作的慢性神经血管紊乱性疾病。临床主要表现为单侧或双侧额部、颞部或半侧头部的搏动性疼痛,常持续数小时甚至数天,有时伴有恶心、呕吐、怕光等症状^[1],严重危害患者的身心健康,世界卫生组织已将重度偏头痛列为严重影响患者生活质量的慢性疾病之一。偏头痛发病机制至今尚未清楚,但现已公认,偏头痛发作与五羟色胺(5-HT)代谢有关。5-HT 学说认为,在偏头痛的前驱期,血小板聚集性明显增加,释放 5-HT,从而引起血管紧张性收缩,脑血流减少,发生前驱症状。此后由于血小板聚集性下降,5-HT 耗竭,导致颅外动脉病理性扩张,脑血流增加,出现剧烈头痛,同时,释放出的 5-HT 引起毛细血管通透性亢进和血浆成分的血管外渗出,使血浆中的激肽、前列腺素等游离出来导致头痛增加和血管浮肿。鉴于以上机制和临床上发现单胺类递质耗竭剂利血平能够诱发偏头痛,及局部注射凝血块可以诱发脑血管痉挛,因此,将上述两种方法结合起来,形成了利血平化低 5-HT 伴局部脑血管痉挛的小鼠偏头痛模型。在此模型实验研究中,一般采用凝血时间、血清或脑匀浆中单胺类神经递质 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量等指标来评价治疗偏头痛的药物疗效^[2]。目前,临床上常用布洛芬来缓解偏头痛的急性发作,但作为非甾体抗炎镇痛药,

只能缓解症状,对偏头痛无特异性疗效。中药复方芎麻汤为治头风之良药、头痛之要药的传统经典古方,源于《圣济总录》,组成为:川芎(一斤)、天麻(四两)二药,主治偏正头痛、头风眩晕、目系眩急、身体拘倦。我院及湖南中医药大学附属第一医院的临床疗效显示,两药联用,具有良好效果,不仅能缓解症状,还能控制病情。本实验在临床指导下,观察两药联用对利血平低 5-HT 小鼠偏头痛模型的影响,为临床联合用药提供可靠依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级昆明(KM)种小鼠,体质量:18~22 g,♀♂各半,合格证号:HNACSDC20101235,许可证号:SCXK(湘)2009-0012。由湖南长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供。

1.1.2 药物 布洛芬(批号:101101,国药准字:H20074172,北京红林制药有限公司);芎麻汤水煎浸膏(由湖南中医药大学中药现代化重点实验室提供:川芎 100 g、天麻 25 g,1 000 mL 水浸泡 30 min,煎煮 2 次,合并滤液,浓缩至 75 g 浸膏)。

1.1.3 试剂 5-HT、5-HIAA 试剂盒(批号:20110501A,上海源叶生物科技有限公司);利血平注射液(规格:1 mg·mL⁻¹,批号:100712,国药准字 H44021892,广东邦民制药厂有限公司)。

1.1.4 仪器 RT-6000 酶标分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司); RT-3000 全自动洗板机(深圳雷杜生命科学股份有限公司); AL204 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); MP51001 电子称(上海横平科学仪器有限公司)。

1.2 方法^[3-5]

选体质量 18~22 g 的 KM 种小鼠 60 只, ♂ ♀ 各半, 按体质量随机分成 5 组, 分别为空白对照组、模型空白组、布洛芬联合芎麻汤组、芎麻汤水煎浸膏组、布洛芬对照组。除空白对照组注射生理盐水外, 其余 4 组均皮下注射利血平 10 mg·kg⁻¹ 共 14 d(在注射利血平后, 小鼠均出现闭目、倦伏少动、腹泻、体温降低、进食量少、弓背、全身颤抖等典型的利血平化症状, 说明模型造模成功)。于造模后第 4 天开始, 空白对照组和模型空白组给予生理盐水灌胃, 其余各组分别给予对应药物灌胃, 芎麻汤水煎浸膏组以生药 3.16 g·kg⁻¹, 布洛芬对照组以布洛芬 0.34 g·kg⁻¹, 布洛芬联合芎麻汤组以芎麻汤水煎浸膏 3.16 g·kg⁻¹、布洛芬 0.34 g·kg⁻¹ 给药, 连续 11 d, 于末次给药后 1 h, 称重, 乙醚麻醉, 经颅穿刺大脑皮层注射自身鼠血凝块 2 μL·只⁻¹, 立即出现强迫性偏头、翻滚、抽搐等偏头痛症状, 约 5~10 min 逐渐恢复正常后, 毛细管取眼内眦血, 采用毛玻璃管法测凝血时间; 划开小鼠颈部, 剥离颈动脉, 用 1 mL 注射器抽取颈动脉内血, 离心等预处理, 酶标仪测血清中 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量。

1.3 统计学分析

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计处理。组间及组内比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对偏头痛小鼠体质量的影响

造模开始前, 各组动物体质量无明显差异。至实验结束时, 与模型空白组比较, 布洛芬联合芎麻汤组、芎麻汤水煎浸膏组和布洛芬对照组小鼠体质量明显提高, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$); 表明布洛芬、芎麻汤水煎浸膏均能增加偏头痛小鼠体质量。结果见表 1。

2.2 对偏头痛小鼠凝血时间的影响

与模型空白组比较, 布洛芬联合芎麻汤组、芎麻汤水煎浸膏组和布洛芬对照组小鼠凝血时间明显延长, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$); 表明布洛芬、芎麻汤水煎浸膏均能延长偏头痛小鼠的凝

血时间。结果见表 2。

表 1 对偏头痛小鼠体质量的影响 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Results of body weight ($n=12, \bar{x} \pm s$)

组 别	体质量/g	
	第 1 天	第 14 天
空白对照组	21.40±0.30	28.29±0.62
模型空白组	21.47±0.35	20.32±0.90
布洛芬联合芎麻汤组	21.38±0.37	28.64±0.58 ¹⁾
芎麻汤水煎浸膏组	21.30±0.34	27.33±0.65 ¹⁾
布洛芬对照组	21.40±0.36	25.78±0.57 ¹⁾

注: 与模型空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compare with model group, ¹⁾ $P<0.01$

表 2 对偏头痛小鼠凝血时间的影响 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Results of coagulation time ($n=12, \bar{x} \pm s$)

组 别	凝血时间/s
空白对照组	35.74±0.88
模型空白组	28.02±0.54
布洛芬联合芎麻汤组	35.87±0.56 ¹⁾
芎麻汤水煎浸膏组	34.55±0.67 ¹⁾
布洛芬对照组	34.08±0.46 ¹⁾

注: 与模型空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compare with model group, ¹⁾ $P<0.01$

2.3 对偏头痛小鼠血清中 5-HT、5-HIAA 的影响

与模型空白组比较, 布洛芬联合芎麻汤组、芎麻汤水煎浸膏组和布洛芬对照组小鼠血清中 5-HT、5-HIAA 含量明显升高, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$); 表明布洛芬、芎麻汤水煎浸膏均能调节 5-HT 的过度降低, 提高血清中 5-HIAA 的含量。结果见表 3。

表 3 对偏头痛小鼠 5-HT、5-HIAA 的影响 ($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Results of 5-HT、5-HIAA ($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	血清指标/pg·mL ⁻¹	
	5-HT	5-HIAA
空白对照组	109.93±8.05	103.14±2.34
模型空白组	77.28±4.56	65.33±2.45
布洛芬联合芎麻汤组	110.09±3.68 ¹⁾	104.20±3.86 ¹⁾
芎麻汤水煎浸膏组	106.86±5.68 ¹⁾	103.07±2.28 ¹⁾
布洛芬对照组	106.89±5.04 ¹⁾	103.51±3.21 ¹⁾

注: 与模型空白组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compare with model group, ¹⁾ $P<0.01$

3 讨论

偏头痛, 现代医学称之为原发性血管神经头痛, 属 10 类(种)严重危害人类健康的重大疾病。2010 年原发性头痛流行病学调查显示, 我国偏头痛发病率 9.3%(治疗费用高达 873.6 亿元·年⁻¹)^[6];

日本为 6.0%~8.4%; 美国约为 12%; 欧洲与美国的偏头痛患病率较为接近^[7]。在美国, 每年因头痛发作造成的经济损失高达 130 亿美元^[8]。目前, 布洛芬等非甾体抗炎药及其复方制剂作为轻、中度的偏头痛发作和既往使用有效的重度偏头痛发作的一线药物^[9]。且临床显示, 联合中药复方疗效更佳。

本实验研究结果显示, 布洛芬、芎麻汤水煎浸膏、及两药联用均能增加偏头痛小鼠的体质量, 延长其凝血时间, 调节 5-HT 的过度降低, 提高血清中单胺类神经递质 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量。从实验数据上分析, 两药联用效果更好, 其原因可能是, 一方面中药复方芎麻汤中的某些有效成分协同布洛芬的抗炎及镇痛作用, 有效缓解偏头痛的急性发作; 另一方面可能是中药复方芎麻汤某些有效成分能双向调节单胺类递质 5-HT 的含量, 促使其恢复平衡, 从而达到控制偏头痛发作。但具体的作用机制还需进一步研究确定。

综上所述, 本实验研究能为临床联合用药提供实验依据。

REFERENCES

- [1] CUI L Y. Routine Nerve Internal Medicine Diagnosis and Treatment(神经内科诊疗常规) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 337-339.
- [2] LI J C, MENG X L, ZENG Y. The current research on migraine animal model [J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药与临床), 2010, 1(4): 56-60.
- [3] CHEN Q. Traditional Chinese Medicine Pharmacology Research Methodology(中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 36-38.
- [4] DENG F J, CHEN X L. Experimental migraine method in mice [J]. Chin J Curr Clin Med(中国现代临床医学杂志), 2005, 3(8): 708-710.
- [5] LI J X, GAO H X, ZHANG Y J. The role of headache medicine for migraine model [J]. Hebei Med J(河北医药), 2006, 28(9): 863-864.
- [6] ZHANG Y P. Digital [J]. Chin Health Ind(中国卫生产业), 2010, 7(4): 18-20.
- [7] STOVNER L J, ANDREE C. Prevalence of headache in Europe: a review for the Eurolight project [J]. J Headache Pain, 2010, 11(4): 289-299.
- [8] WANG S. Migraine treatment status quo [J]. J Brain Nerv Dis(脑与神经疾病杂志), 2001, 9(6): 379-389.
- [9] BEBBINGTON P. The world health report 2001 [J]. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol, 2001, 36(10): 473-479.

收稿日期: 2013-04-13

复方甘草酸苷注射液对小鼠放、化疗模型减毒作用实验研究

王涛¹, 刘薇², 庄辉传³, 陈蜜¹, 江振洲^{1*} (1.中国药科大学江苏省新药筛选中心, 南京 210009; 2.南京市职业病防治院药剂科, 南京 210015; 3.中国人民解放军第八一医院药剂科, 南京 210002)

摘要: 目的 考察复方甘草酸苷注射液(美能注射液)对于放、化疗动物模型骨髓抑制和免疫损伤的减毒作用, 探寻本品临床应用的新价值。方法 选择正常及 S180 荷瘤小鼠, 采用放疗(⁶⁰Co 照射, 5.0 Gy)和化疗(环磷酰胺, 100 mg·kg⁻¹, 腹腔注射)方法建立模型, 通过体质量、胸腺指数、脾脏指数、白细胞数和骨髓有核细胞数等指标, 评价复方甘草酸苷注射液对放、化疗模型减毒作用。复方甘草酸苷注射液设高、中、低剂量组(以甘草酸苷计分别为 40, 20, 10 mg·kg⁻¹), 1 次·d⁻¹, 连续静脉注射给药 7 d。第 8 天处死动物, 测定体质量、外周血白细胞数、骨髓有核细胞数、胸腺系数、脾脏系数。结果 ①化疗模型中, 环磷酰胺可使得正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠胸腺和脾脏的脏器指数显著下降($P<0.01$), 白细胞数和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.05$)。复方甘草酸苷注射液高剂量可明显升高 2 种化疗动物模型白细胞数和骨髓有核细胞数($P<0.05$), 中低剂量组也有部分改善作用。复方甘草酸苷注射液对胸腺和脾脏的脏器指数改善作用不明显。②放疗模型中, ⁶⁰Co 照射可使得正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠胸腺和脾脏的脏器指数显著降低($P<0.01$), 白细胞和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.01$)。复方甘草酸苷注射液各剂量组对 ⁶⁰Co 照射引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠各项指标变化均未见明显改善作用。结论 对于环磷酰胺化疗引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠的骨髓抑制, 复方甘草酸苷注射液具有明显的改善作用; 对于 ⁶⁰Co 放疗引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠的骨髓抑制, 复方甘草酸苷注射液改善作用不明显, 提示本品在化疗骨髓抑制防护方面具有一定的应用价值。

关键词: 复方甘草酸苷注射液; 化疗; 放疗; 骨髓抑制

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)09-0943-06

作者简介: 王涛, 男, 硕士, 助理研究员 Tel: (025)83271043
助理研究员 Tel: (025)83271043 E-mail: jiangcpu@163.com

E-mail: wangtao1331@126.com *通信作者: 江振洲, 男, 硕士, 助